

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-019196

(43)Date of publication of application : 21.01.2003

---

(51)Int.CI. A61L 27/00  
A61F 2/04

---

(21)Application number : 2001-208179

(71)Applicant : GUNZE LTD

(22)Date of filing : 09.07.2001

(72)Inventor : MORITA SHINICHIRO

IKADA YOSHITO

TAKAMATSU KIYOHITO

---

(54) NEUROTIZATION TUBE

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To reproduce cut nerves.

SOLUTION: This neurotization tube includes a sponge made from a bioabsorbable polymer and tubular reinforcement made from another bioabsorbable polymer having a longer decomposition and absorption period than the sponge, with at least the inner surface of the tube being formed of the sponge.



---

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

## \* NOTICES \*

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

## CLAIMS

---

## [Claim(s)]

[Claim 1] The neurotization tube whose inside is sponge at least including the tubed reinforcement which consist of bioabsorbable polymers with a decomposition absorption period longer than the sponge which consists of bioabsorbable polymers, and this sponge.

[Claim 2] The tube according to claim 1 which has the configuration whose tubed reinforcement are a braid, knitting, textiles, a nonwoven fabric, a punching sheet, or a spiral mesh.

[Claim 3] The tube according to claim 2 said whose reinforcement are outer layers and said whose sponge is a inner layer.

[Claim 4] The tube according to claim 1 to 3 which furthermore contains a cell adhesion sex factor.

[Claim 5] The tube according to claim 1 to 4 which furthermore contains a growth factor.

[Claim 6] The tube according to claim 1 to 5 characterized by carrying out seeding of the Schwann cell to the inside of a tube.

[Claim 7] The process which fixes the tubed reinforcement constituted from living body absorptivity fiber by the outside of an following process (A) – (Process C):(process A):tubed axis (B) : The obtained reinforcement fixed axis is freeze-dried after being immersed in a living body absorptivity polymer solution. The process which forms sponge with a decomposition absorption period shorter than tubed reinforcement (C): The manufacture approach of a neurotization tube of having the sponge and tubed reinforcement which remove a freeze-drying object from a tubed axis, and are characterized by including reversal \*\*\*\* if needed.

[Claim 8] The manufacture approach of a neurotization tube according to claim 7 of having the sponge inside by which coating was carried out by the cell adhesion sex factor and/or growth factor which are characterized by presenting said process (C) with the freeze-drying object obtained at the process (B1), including further the process (B1) which is immersed in the solution of a cell adhesion sex factor and/or a growth factor, and freeze-dries the tubed axis which has the sponge and reinforcement which were obtained at the process (B).

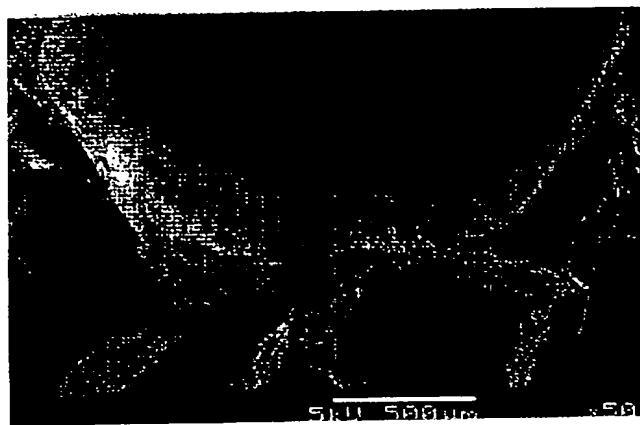
[Claim 9] The manufacture approach of a neurotization tube which includes further the process (D) which carries out seeding of the Schwann cell and cultivates it to the tube inside acquired at claim 7 or the process (C) of 8 of having a Schwann cell inside.

---

[Translation done.]

Drawing selection Representative drawing ▾

---



---

[Translation done.]

## \* NOTICES \*

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

## DETAILED DESCRIPTION

---

### [Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to a neurotization tube and its manufacturing method.

[0002]

[Description of the Prior Art] The attempt for extending a refreshable distance between stump using a silicone tube has been made about playback of a peripheral nerve since the announcement of the silicone tube model by Lundberg and others reported in 1982. However, when a damage nerve is restored using a silicone tube, a silicone tube may suppress the nerve reproduced in the tube to perimeter nature as time amount passes.

[0003] The technique about playback of the nerve deficit using the macromolecule which consists of a bioabsorbable polymer on the other hand is also well-known. For example, although JP,2001-70436,A is indicating the technique of using collagen base materials, such as sponge, a tube, and a coil, reinforcement sufficient in such a base material is not obtained.

[0004] Moreover, WO 98/22155 consists of a tube of a biolysis absorptivity ingredient, and a collagen object which has the opening which meets the lumen almost in parallel with the axis of this tube, and penetrates this tube, and is indicating the artificial neural tube filled up with the matrix gel in which this opening contains a collagen, a laminin, etc. However, since the interior is filled up into this artificial neural tube with a collagen object and matrix gel, it cannot carry out seeding of the Schwann cell to the interior.

[0005] Also in the long nerve deficit section, the prompt neurotization is possible, and this invention aims at offering the neurotization tube which does not have a bad influence to a playback nerve, and its manufacturing method.

[0006]

[Means for Solving the Problem] This invention offers the following neurotization tube and its manufacturing method.

Term 1. Neurotization tube whose inside is sponge at least including the tubed reinforcement which consist of bioabsorbable polymers with a decomposition absorption period longer than the sponge which consists of bioabsorbable polymers, and this sponge.

Term 2. Tube given in the term 1 which has the configuration whose tubed reinforcement are a braid, knitting, textiles, a nonwoven fabric, a punching sheet, or a spiral mesh.

Term 3. Tube given in the term 2 said whose tubed reinforcement are outer layers and said whose sponge is a inner layer.

Term 4. Tube given in either of the terms 1-3 which contain a cell adhesion sex factor further.

Term 5. Tube given in either of the terms 1-4 which contain a growth factor further.

Term 6. Tube given in either of the terms 1-5 characterized by carrying out seeding of the Schwann cell to the inside of a tube.

Term 7. The process which fixes the tubed reinforcement constituted from living body absorptivity fiber by the outside of an following process (A) - (Process C):(process A):tubed axis (B) : The obtained reinforcement fixed axis is freeze-dried after being immersed in a living body absorptivity polymer solution. The process which forms sponge with a decomposition absorption

period shorter than tubed reinforcement (C): The manufacture approach of a neurotization tube of having the sponge and tubed reinforcement which remove a freeze-drying object from a tubed axis, and are characterized by including reversal \*\*\*\* if needed.

Term 8. The manufacture approach of a neurotization tube given in the term 7 which has the sponge inside by which coating was carried out by the cell-adhesion sex factor and/or the growth factor characterized by to present said process (C) with the freeze-drying object obtained at the process (B1), including further the process (B1) which is immersed in the solution of a cell-adhesion sex factor and/or a growth factor, and freeze-dries the tubed axis which has the sponge and the reinforcement obtained at the process (B).

Term 9. The manufacture approach of a neurotization tube which includes further the process (D) which carries out seeding of the Schwann cell and cultivates it to the tube inside acquired at the term 7 or the process (C) of 8 of having a Schwann cell inside.

[0007]

[Embodiment of the Invention] In this invention, both a synthetic bioabsorbable polymer and a natural bioabsorbable polymer can be used as a bioabsorbable polymer. as a synthetic bioabsorbable polymer -- aliphatic series polyester (polyglycolic acid --) Polylactic acid (D object, L bodies, DL object), the poly caprolactone, the poly valerolactones, and those copolymers. For example, a lactic-acid-caprolactone copolymer, a lactic-acid-glycolic-acid copolymer, A glycolic-acid-trimethylene carbonate copolymer, a glycolic-acid-trimethylene carbonate-dioxa non copolymer, A glycolic-acid-trimethylene carbonate-epsilon caprolactone copolymer etc., The polyester ether (Polly 1, 4-dioxa non-2-ON, Polly 1, 5-dioxepane-2-ON, ethylene glycol - said aliphatic series polyester copolymer and copolymer of said aliphatic series polyester and polyester ether) is mentioned. As a natural bioabsorbable polymer, a collagen, gelatin, hyaluronic acid, an alginic acid, etc. are illustrated.

[0008] As a desirable synthetic bioabsorbable polymer which constitutes sponge, polylactic acid, polyglycolic acid, the poly caprolactones, those copolymers, etc. are illustrated, and polylactic acid, polyglycolic acid, the poly caprolactones, those copolymers, etc. are illustrated as a desirable synthetic bioabsorbable polymer which constitutes reinforcement.

[0009] You may differ, even if the synthetic long bioabsorbable polymer of a decomposition absorption period is the more nearly same than the synthetic bioabsorbable polymer which constitutes sponge, and this sponge that constitutes reinforcement.

[0010] With "the reinforcement which consists of synthetic long bioabsorbable polymers of a decomposition absorption period from this sponge" The synthetic bioabsorbable polymer itself which constitutes reinforcement rather than the synthetic bioabsorbable polymer of sponge [ others / in the case of being a macromolecule with high decomposition resistance in the living body ] Although the macromolecule itself is the same or the direction of the macromolecule of reinforcement is easy to be decomposed, since tubed reinforcement are hard to be decomposed rather than sponge, it means, in case [ both ] synthetic living body absorptivity fiber becomes [ a decomposition absorption period ] longer than synthetic living body absorptivity sponge as a whole.

[0011] As a component of the reinforcement of this invention, fiber, such as a monofilament, multifilament, and a string, a sheet, and a nonwoven fabric are illustrated. About 10-2000 micrometers of diameters of this fiber are about 50-1000 micrometers preferably. The spiral mesh spirally knit as tubed reinforcement with a braid, textiles, knitting, a nonwoven fabric, a punching sheet, or filament yarn is illustrated, and a braid is illustrated preferably. About 10-2000 micrometers of thickness of tubed reinforcement are about 50-1000 micrometers preferably.

[0012] The thickness of the sponge of this invention is about 0.5-2mm preferably about 0.1-5mm, and about 1-500 micrometers of apertures of sponge are about 10-200 micrometers preferably. Reinforcement may be in the interior of sponge, a neurotization tube may be constituted as one, sponge may be a inner layer, and reinforcement may be outer layers. In this case, you may dissociate completely and a sponge inner layer and a reinforcement outer layer may have the layer in which sponge and reinforcement are intermingled.

[0013] About 0.1-5mm, the thickness of the neurotization tube of this invention is about 0.5-2mm, and a bore is about 0.5-3mm preferably about 0.1-5mm.

[0014] As a cell adhesion sex factor, collagens (an I-beam, IV mold, etc.), a laminin, fibronectin, etc. are mentioned.

[0015] As a growth factor, a nerve growth factor (NGF), a neurotrophic factor, a neural spine progress factor, etc. are mentioned.

[0016] The cell adhesion sex factor and the growth factor may be contained inside sponge, and coating may be carried out on the surface of sponge. The cell adhesion sex factor and the growth factor may be further contained inside reinforcement, and coating may be carried out on the surface of reinforcement.

[0017] the neurotization tube of this invention fixes the tubed reinforcement constituted from synthetic living body absorptivity fiber by the outside of a :process A:tubed axis which can manufacture by the approach including the following processes (A) – a process (C) -- Process (B): Freeze-dry the obtained reinforcement fixed axis after being immersed in a synthetic living body absorptivity polymer solution, and and it forms a sponge layer with a decomposition absorption period shorter than tubed reinforcement, remove a (Process C):freeze-drying object from a tubed axis, and it is reversed if needed.

[0018] In a process (A), tubed reinforcement may be attached outside so that it may stick to the outside of a tubed axis, and the neurotization tube which contains tubed reinforcement in this case in an outer layer is obtained (when reinforcement have opening, sponge invades into this opening). Moreover, you may fix to the location distant from the tubed axis by preparing the removable lobes (for example, the projection of a radial, a doughnut-like collar, etc.) for fixing tubed reinforcement to the position (for example, location corresponding to the die length of a neurotization tube) of a tubed axis. In this case, in reinforcement or said height, it has opening so that a synthetic living body absorptivity polymer solution may trespass upon the clearance between reinforcement and a tubed axis. Thus, the neurotization (reinforcement were surrounded by sponge) tube with which reinforcement and sponge were united is obtained by fixing tubed reinforcement to the location distant from the tubed axis.

[0019] In addition, that by which a synthetic living body absorptivity polymer solution does not trespass upon the interior can be used for a tubed axis.

[0020] As for a synthetic living body absorptivity polymer solution, in a process (B), it is desirable that it is the solution which does not melt the macromolecule which constitutes reinforcement as much as possible. Dioxane, chloroform, an acetonitrile, a methylene chloride, etc. are mentioned as a solvent of this solution. or it adjusts concentration and temperature so that the concentration of this solvent may become close to saturation solubility when this solvent may dissolve the macromolecule which constitutes reinforcement -- or -- It is desirable to shorten time amount immersed in a synthetic living body absorptivity polymer solution in a reinforcement fixed axis as much as possible, and to freeze-dry promptly after immersion.

[0021] As concentration of a synthetic living body absorptivity polymer solution, it is about 1 – 10 % of the weight preferably about 0.1 to 20% of the weight.

[0022] In a process (C), when the freeze-drying object after immersion is removed from a tubed axis, sponge may exist in the outside of reinforcement, or (it is adhesion immobilization to a tubed axis about reinforcement) may exist in both an outside and the inside (reinforcement are fixed to a tubed axis and the distant location). When sponge exists as an outer layer of reinforcement, the neurotization tube which reverses this and has sponge inside is obtained. Although it does not necessarily need to be reversed since an inside is sponge when it has a sponge layer on both sides of reinforcement, it is desirable to obtain the neurotization tube with which the sponge layer of the outside of reinforcement made it reversed, and made the inside sponge layer thicker when thicker as compared with the inside.

[0023] Reversal is in the condition which has held the end of a tube with the holder thinner than a tube bore, and can be performed by pushing in the edge of a tube in the tube.

[0024] When not reversed, reinforcement are fixed inside the 1st tubed core material in the air, the further tubed 2nd tubed core material is fixed to a core, and the neurotization tube which has sponge inside can be obtained without being reversed, if a synthetic living body absorptivity polymer solution is slushed and it freeze-dries between the 1st tubed core material and the 2nd tubed core material.

[0025] If the cell adhesion sex factor and/or the growth factor are blended with the synthetic living body absorptivity polymer solution by predetermined concentration, the neurotization tube with which this factor is contained in sponge can be obtained.

[0026] Also by performing the process which is immersed in the solution (preferably water solution) of a cell adhesion sex factor and/or a growth factor, and freeze-dries the tubed axis which has the sponge and reinforcement which were obtained at the process (B), the neurotization tube which has the sponge inside by which coating was carried out by the cell adhesion sex factor and/or the growth factor can be obtained. Moreover, after making a bridge formation gelatin particle include a growth factor, you may make it compound-ize with sponge.

[0027] About 0.01 – 10% is illustrated as concentration of a cell adhesion sex factor.

[0028] Although a water solution is usually used, aquosity solutions, such as water alcohol, may be used for the solution of a cell adhesion sex factor and/or a growth factor.

[0029] If seeding of the Schwann cell is carried out and it is cultivated to a tube inside, the neurotization tube with which a Schwann cell exists in a tube inside preferably by one layer at the lumen perimeter can be obtained. In order to paste up a Schwann cell on the lumen perimeter, it is desirable to carry out pipetting and to carry out seeding of the Schwann cell to the whole lumen, rolling, rotating a tube.

[0030]

[Example] Hereafter, this invention is explained more to a detail based on an example. Example of manufacture 1 polylactic-acid fiber (40d) was \*\*\*\*(ed) using the braid machine, and it considered as the tubed core material. This was inserted in the rod made from stainless steel, and after being immersed in the dioxane solution (5 % of the weight) of a lactic acid / epsilon-caprolactone copolymer (mole ratios 50/50), after freezing at -40 degrees C, it freeze-dried at 30 degrees C for 24 hours. Thus, the complex ((A) of the example 4 of an experiment) which has the reinforcement which become a inner layer from a polylactic acid braid in a lactic acid / epsilon-caprolactone copolymer sponge, and an outer layer was obtained.

[0031] 0.1% solution of a collagen (Type I, \*\*\*\* origin atelocollagen) was made to fully permeate the above-mentioned sponge complex, and it freeze-dried at 30 degrees C after freezing in -100 degrees C for 24 hours. The collagen tube ((C) of the example 4 of an experiment) with which coating of the Type I collagen was carried out to the whole including an inside was obtained.

[0032] As the obtained neurotization tube was shown in drawing 1 (50 time enlargement of a braid reinforcement layer front face), drawing 2 (400 time enlargement of a sponge inner layer), and drawing 3 (50 time enlargement of the cross section of a tube), a inner layer is sponge, outer layers are reinforcement, and the sponge layer and the reinforcement layer were separated.

Example of manufacture 2 polylactic-acid fiber (40d) was \*\*\*\*(ed) using the braid machine, and it considered as the tubed core material. This was inserted in the rod made from stainless steel, and after being immersed in the dioxane solution (5 % of the weight) of a lactic acid / epsilon-caprolactone copolymer (mole ratios 25/75), after freezing at -40 degrees C, it freeze-dried at 30 degrees C for 24 hours. Thus, the complex ((B) of the example 4 of an experiment) which has the reinforcement which become a inner layer from a polylactic acid braid in a lactic acid / epsilon-caprolactone copolymer sponge, and an outer layer was obtained.

The collagen tube ((D) of the example 4 of an experiment) with which coating of the Type IV collagen was carried out to the whole which replace with an example of manufacture 3Type I collagen, and a Type IV collagen is used, and also includes an inside like the example 1 of manufacture was obtained.

The collagen tube ((E) of the example 4 of an experiment) with which replaced with the example of manufacture 4Type I collagen, and the mixture (1:1-fold quantitative ratio) of a Type I collagen and a Type IV collagen was used, and also coating of the Type I+Type IV collagen was carried out to the whole like the example 1 of manufacture was obtained.

Both the sciatic nerve of ten example of experiment 1Fischer 344 rat males is detached temporarily. Right-hand side is Type I to the tube (the bore of 2mm, die length of 4mm) produced in P (LA/CL) sponge inner layer and the core material PLLA braid outer layer. Using what coated the collagen, the nerve was inserted in both ends every 2mm, these nerve stump was stuck, and nerve junction was performed. Nerve junction was performed by suturing a nerve in a tube with 8

and 0 nylon yarn. On the other hand, in left-hand side, the sciatic nerve separated temporarily was sutured with 8-0 nylon yarn.

[0033] The both-sides sciatic nerve was extracted eight weeks after the operation, and the center, the peripheral number of axons, and axon consistency of the transplantation section were measured.

[0034] When the tube which reinforced P (LA/CL) sponge with the core material which consists of a PLLA braid according to these results was used, the result which exceeds an EQC or it by the simple approach was obtained rather than nervous playback showed a good result and it sutured the cut nerve.

Both the sciatic nerve of ten example of experiment 2Fischer 344 rat males was excised about 12mm. Right-hand side is Type I to the tube (the bore of 2mm, die length of 16mm) produced in P (LA/CL) sponge inner layer and the PLLA braid outer layer. Inserted the nerve in both ends every 2mm, deficit spacing is made to be set to 12mm using what coated the collagen, and it fixed by suturing the both ends and the nerve fiber of a tube with 8 and 0 nylon yarn. In left-hand side, it is Type I. It replaces with a collagen and is Type IV. It coated using the collagen and also the nerve fiber was fixed similarly.

[0035] The both-sides sciatic nerve was extracted eight weeks after the operation, and the center, the peripheral number of axons, and axon consistency of the transplantation section were measured.

[0036] According to these results, the nerve stump is Type I. A collagen and Type IV Each collagen showed the good result similarly.

About 20mm deficit was created to the total sural nerve of both sides using ten example of experiment 3 Japan white rabbits. Next, the sural nerve by the side of \*\* was extracted 60mm, and die-length 20mmx3cable graft was produced, and the polarity was reversed and it transplanted to the bottom of an operation microscope at the total sural-nerve deficit section. Inside, the suture section presupposed that it remains as it is, and five-bird ten legs \*\*\*\*(ed) and considered it as control. It is what carried out the vertical division of die length of 6mm, and the living body absorptivity tube of 2mm of lumens to the center and the peripheral nerve joint to the remaining five-bird ten legs, and it sutured so that the perimeter might be involved in and it might become lumen-like again. Electrophysiology-functional and morphological retrieval was performed about these 2 group as of postoperative six months.

The complex of (A) – (E) of the following obtained in the examples 1–4 of example of experiment 4 manufacture was used.

- (A): CL:PLLA (50:50), collagen coating (-)
- (B): CL:PLLA (75:25), collagen coating (-)
- (C): CL:PLLA (50:50), Type I collagen coating (+)
- (D): CL:PLLA (50:50), Type IV collagen coating (+)
- (E): CL:PLLA (50:50), Type I+Type IV collagen coating (+)

The above-mentioned complex was cut to shaft orientations, plate-like complex was obtained, and this was cut in the shape of a disk. After carrying out ethanol processing of the complex of the shape of an acquired disk, seeding of the Schwann cell extracted and cultivated from the dorsal root ganglion of a rat was carried out on the collagen coating layer which covered the CL/PLLA copolymer top of the shape of sponge of said complex, or its front face, and the adhesive property was examined on the scanning electron microscope and the histology target. In addition, immunity dyeing by S-100 antibody was performed for identification of a Schwann cell. The immunity dyeing result by S-100 antibody using complex (C) is shown in drawing 4.

[0037] Consequently, in all the complex of (A) – (E), adhesion of a Schwann cell was further accepted in the sex on CL/PLLA copolymer sponge.

[0038]

[Effect of the Invention] According to the approach of this invention, the neurotization the case where a silicone tube is used, and more than an EQC may be performed, and since it moreover consists only of a living body absorptivity ingredient, it is not necessary to take out after the operation.

[0039] Although the nerve graft of a body is carried out in recent years, immunosuppression

abbreviation is required, or there is risk of virus infection, and although it is hard to become general technique, there is such no problem in this invention.

---

[Translation done.]

**\* NOTICES \***

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

**DESCRIPTION OF DRAWINGS**

---

**[Brief Description of the Drawings]**

**[Drawing 1]** It is the drawing substitution photograph (50 time expansion) in which a braid reinforcement layer front face is shown.

**[Drawing 2]** It is the drawing substitution photograph (400 time expansion) in which a sponge inner layer is shown.

**[Drawing 3]** It is the drawing substitution photograph (50 time expansion) in which the cross section of a tube is shown.

**[Drawing 4]** It is the drawing substitution photograph in which the immunity dyeing result by S-100 antibody of the example 4 of an experiment is shown.

---

[Translation done.]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-19196

(P2003-19196A)

(43)公開日 平成15年1月21日 (2003.1.21)

(51)Int.Cl.

A 6 1 L 27/00  
A 6 1 F 2/04

識別記号

F I

A 6 1 L 27/00  
A 6 1 F 2/04

テ-マコ-ド\*(参考)

Q 4 C 0 8 1  
4 C 0 9 7

審査請求 未請求 請求項の数 9 OL (全 6 頁)

(21)出願番号

特願2001-208179(P2001-208179)

(22)出願日

平成13年7月9日(2001.7.9)

(71)出願人 000001339

グンゼ株式会社

京都府綾部市青野町膳所1番地

(72)発明者 森田 真一郎

京都府綾部市井倉新町石風呂1番地 グン  
ゼ株式会社研究開発部内

(72)発明者 笹 義人

京都府宇治市五ヶ庄広岡谷2-182

(74)代理人 100065215

弁理士 三枝 英二 (外8名)

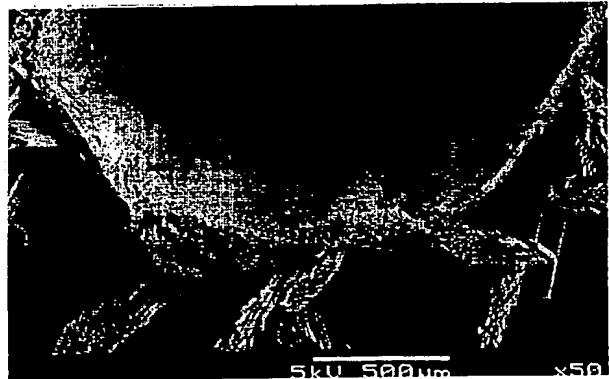
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 神経再生チューブ

(57)【要約】

【課題】 切断された神経を再生する。

【解決手段】 生体吸収性高分子から構成されるスポンジ、及び、該スポンジより分解吸収期間の長い生体吸収性高分子から構成される筒状の強化材を含み、少なくとも内面がスポンジである神経再生チューブ。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】生体吸収性高分子から構成されるスponジ、及び、該スponジより分解吸収期間の長い生体吸収性高分子から構成される筒状の強化材を含み、少なくとも内面がスponジである神経再生チューブ。

【請求項2】筒状の強化材が組紐、編物、織物、不織布、パンチングシートまたはスパイラルメッシュの形状を有する請求項1に記載のチューブ。

【請求項3】前記強化材が外層であり、前記スponジが内層である請求項2に記載のチューブ。

【請求項4】さらに細胞接着性因子を含む請求項1～3のいずれかに記載のチューブ。

【請求項5】さらに成長因子を含む請求項1～4のいずれかに記載のチューブ。

【請求項6】シュワン細胞がチューブの内面に播種されたことを特徴とする請求項1～5のいずれかに記載のチューブ。

【請求項7】以下の工程(A)～工程(C)：

工程(A)：筒状芯体の外側に生体吸収性繊維から構成される筒状強化材を固定する。

工程(B)：得られた強化材固定芯体を生体吸収性高分子溶液に浸漬後凍結乾燥して、筒状強化材よりも分解吸収期間の短いスponジを形成する。

工程(C)：凍結乾燥物を筒状芯体から外し、必要に応じて反転する

を包含することを特徴とする、スponジ及び筒状強化材を有する神経再生チューブの製造方法。

【請求項8】工程(B)で得られたスponジ及び強化材を有する筒状芯体を細胞接着性因子及び／又は成長因子の溶液に浸漬して凍結乾燥する工程(B1)をさらに含み、工程(B1)で得られた凍結乾燥物を前記工程

(C)に供することを特徴とする、細胞接着性因子及び／又は成長因子でコーティングされたスponジ内面を有する請求項7に記載の神経再生チューブの製造方法。

【請求項9】請求項7又は8の工程(C)で得られたチューブ内面にシュワン細胞を播種して培養する工程

(D)をさらに包含する、内面にシュワン細胞を有する神経再生チューブの製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、神経再生チューブ及びその製造法に関する。

## 【0002】

【従来の技術及びその課題】末梢神経の再生に関し、1982年に報告されたLundbergらによるシリコーンチューブモデルの発表以来、シリコーンチューブを用いて再生可能な断端間距離を延長するための試みがなされてきた。しかしながら、シリコーンチューブを用いて損傷神経を修復した場合、時間が経つにつれてチューブ内に再生した神経をシリコーンチューブが全周性に圧迫する可

能性がある。

【0003】一方、生体吸収性高分子からなる高分子を用いる神経欠損の再生に関する技術も公知である。例えば特開2001-70436号公報は、スponジ、チューブ、コイル等のコラーゲン支持体を用いる技術を開示しているが、このような支持体では十分な強度が得られない。

【0004】また、WO98/22155は、生体分解吸収性材料のチューブと、その内腔に該チューブの軸線にはば平行に沿って該チューブを貫通する空隙を有するコラーゲン体からなり、該空隙がコラーゲン、ラミニン等を含むマトリックスゲルで充填されている人工神経管を開示している。しかしながら、該人工神経管は内部をコラーゲン体及びマトリックスゲルで充填されているため、シュワン細胞を内部に播種できない。

【0005】本発明は、長い神経欠損部においても速やかな神経再生が可能であり、再生神経に対して悪影響のない神経再生チューブ及びその製造法を提供することを目的とする。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、以下の神経再生チューブ及びその製造法を提供するものである。

項1. 生体吸収性高分子から構成されるスponジ、及び、該スponジより分解吸収期間の長い生体吸収性高分子から構成される筒状の強化材を含み、少なくとも内面がスponジである神経再生チューブ。

項2. 筒状の強化材が組紐、編物、織物、不織布、パンチングシートまたはスパイラルメッシュの形状を有する項1に記載のチューブ。

項3. 前記筒状強化材が外層であり、前記スponジが内層である項2に記載のチューブ。

項4. さらに細胞接着性因子を含む項1～3のいずれかに記載のチューブ。

項5. さらに成長因子を含む項1～4のいずれかに記載のチューブ。

項6. シュワン細胞がチューブの内面に播種されたことを特徴とする項1～5のいずれかに記載のチューブ。

項7. 以下の工程(A)～工程(C)：

工程(A)：筒状芯体の外側に生体吸収性繊維から構成される筒状強化材を固定する。

工程(B)：得られた強化材固定芯体を生体吸収性高分子溶液に浸漬後凍結乾燥して、筒状強化材よりも分解吸収期間の短いスponジを形成する。

工程(C)：凍結乾燥物を筒状芯体から外し、必要に応じて反転するを包含することを特徴とする、スponジ及び筒状強化材を有する神経再生チューブの製造方法。

項8. 工程(B)で得られたスponジ及び強化材を有する筒状芯体を細胞接着性因子及び／又は成長因子の溶液に浸漬して凍結乾燥する工程(B1)をさらに含み、

工程(B1)で得られた凍結乾燥物を前記工程(C)に

供することを特徴とする、細胞接着性因子及び／又は成長因子でコーティングされたスponジ内面を有する項7に記載の神経再生チューブの製造方法。

項9. 項7又は8の工程(C)で得られたチューブ内面にシュワン細胞を播種して培養する工程(D)をさらに包含する、内面にシュワン細胞を有する神経再生チューブの製造方法。

#### 【0007】

【発明の実施の形態】本発明において、生体吸収性高分子としては、合成生体吸収性高分子と天然生体吸収性高分子のいずれも使用することができる。合成生体吸収性高分子としては、脂肪族ポリエステル(ポリグリコール酸、ポリ乳酸(D体、L体、DL体)、ポリカプロラクトン、ポリバレロラクトン及びそれらの共重合体、例えば乳酸-カプロラクトン共重合体、乳酸-グリコール酸共重合体、グリコール酸-トリメチレンカーボネート共重合体、グリコール酸-トリメチレンカーボネート-ジオキサン共重合体、グリコール酸-トリメチレンカーボネート-εカプロラクトン共重合体など)、ポリエステルエーテル(ポリ-1,4-ジオキサン-2-オニン、ポリ-1,5-ジオキセパン-2-オニン、エチレングリコール-前記脂肪族ポリエステル共重合体や、前記脂肪族ポリエステルとポリエステルエーテルとの共重合体)が挙げられる。天然生体吸収性高分子としては、コラーゲン、ゼラチン、ヒアルロン酸、アルギン酸等が例示される。

【0008】スponジを構成する好ましい合成生体吸収性高分子としては、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリカプロラクトンおよびそれらの共重合体などが例示され、強化材を構成する好ましい合成生体吸収性高分子としては、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリカプロラクトンおよびそれらの共重合体などが例示される。

【0009】スponジを構成する合成生体吸収性高分子と、強化材を構成する該スponジより分解吸収期間の長い合成生体吸収性高分子は、同一でも異なっていてよい。

【0010】「該スponジより分解吸収期間の長い合成生体吸収性高分子から構成される強化材」とは、強化材を構成する合成生体吸収性高分子自体がスponジの合成生体吸収性高分子よりも生体内で分解抵抗性の高い高分子である場合の他に、高分子自体は同一であるか、或いは強化材の高分子の方が分解されやすいが、筒状の強化材がスponジよりも分解され難いため、全体として合成生体吸収性繊維が合成生体吸収性スponジよりも分解吸収期間が長くなる場合の両方を意味する。

【0011】本発明の強化材の構成要素としては、モノフィラメント、マルチフィラメント、紐などの繊維、シート、不織布が例示される。該繊維の直径は10～2000μm程度、好ましくは50～1000μm程度である。筒状の強化材としては、組紐、織物、編物、不織

布、パンチングシートまたはフィラメント糸で螺旋状に編んだスパイラルメッシュ等が例示され、好ましくは組紐が例示される。筒状強化材の厚みは10～2000μm程度、好ましくは50～1000μm程度である。

【0012】本発明のスponジの厚みは0.1～5mm程度、好ましくは0.5～2mm程度であり、スponジの孔径は1～500μm程度、好ましくは10～200μm程度である。強化材はスponジの内部にあって一体として神経再生チューブを構成してもよく、スponジが内層であり、強化材が外層であってもよい。この場合、スponジ内層と強化材外層は完全に分離してもよく、スponジと強化材が混在する層があってもよい。

【0013】本発明の神経再生チューブの厚みは0.1～5mm程度、好ましくは0.5～2mm程度、内径は0.1～5mm程度、好ましくは0.5～3mm程度である。

【0014】細胞接着性因子としては、コラーゲン(I型、IV型など)、ラミン、フィプロネクチンなどが挙げられる。

【0015】成長因子としては、神経成長因子(NGF)、神経栄養因子、神経突起進展因子などが挙げられる。

【0016】細胞接着性因子及び成長因子は、スponジの内部に含まれていてもよく、スponジの表面にコーティングされていてもよい。細胞接着性因子及び成長因子は、さらに強化材の内部に含まれていてもよく、強化材の表面にコーティングされていてもよい。

【0017】本発明の神経再生チューブは、以下の工程(A)～工程(C)を含む方法により製造できる：

工程(A)：筒状芯体の外側に合成生体吸収性繊維から構成される筒状強化材を固定する。

工程(B)：得られた強化材固定芯体を合成生体吸収性高分子溶液に浸漬後凍結乾燥して、筒状強化材よりも分解吸収期間の短いスponジ層を形成する、及び

工程(C)：凍結乾燥物を筒状芯体から外し、必要に応じて反転する。

【0018】工程(A)において、筒状強化材は筒状芯体の外側に密着するように外嵌してもよく、この場合、筒状強化材を外層に含む神経再生チューブが得られる

(強化材が開口を有する場合、該開口にスponジが侵入する)。また、筒状芯体の所定の位置(例えば神経再生チューブの長さに対応する位置)に、筒状強化材を固定するための着脱可能な突出部(例えば放射状の突起、ドーナツ状の鍔など)を設けることにより筒状芯体から離れた位置に固定してもよい。この場合、強化材と筒状芯体の隙間に合成生体吸収性高分子溶液が侵入するよう

に、強化材或いは前記突起部において開口を有する。このように、筒状強化材を筒状芯体から離れた位置に固定することで、強化材とスponジが一体となった(強化材がスponジで囲まれた)神経再生チューブが得られる。

【0019】なお、筒状芯体は、内部に合成生体吸収性高分子溶液が侵入しないものが使用できる。

【0020】工程（B）において、合成生体吸収性高分子溶液は、強化材を構成する高分子をできるだけ溶かさない溶液であるのが望ましい。該溶液の溶媒としては、ジオキサン、クロロホルム、アセトニトリル、塩化メチレンなどが挙げられる。該溶液が強化材を構成する高分子を溶解し得る場合、該溶液の濃度が飽和溶解度に近くなるように、濃度、温度を調節するか、或いは、合成生体吸収性高分子溶液に強化材固定芯体を浸漬する時間をできるだけ短くし、浸漬後速やかに凍結乾燥するのが望ましい。

【0021】合成生体吸収性高分子溶液の濃度としては、0.1～20重量%程度、好ましくは1～10重量%程度である。

【0022】工程（C）において、浸漬後の凍結乾燥物を筒状芯体から外した場合、スponジは強化材の外側に存在するか（強化材を筒状芯体に密着固定）、外側と内側の両方（強化材を筒状芯体と離れた位置に固定）に存在する場合がある。スponジが強化材の外層として存在する場合、これを反転してスponジを内面に有する神経再生チューブを得る。強化材の両側にスponジ層を有する場合、内面がスponジであるので必ずしも反転する必要はないが、強化材の外側のスponジ層が内側と比較してより厚い場合、反転させて、内側のスponジ層をより厚くした神経再生チューブを得るのが望ましい。

【0023】反転は、チューブの一端をチューブ内径より細い保持具にてつかんだ状態で、チューブの端をチューブ内に押し込んでいくことにより行うことができる。

【0024】反転を行わない場合、強化材を中空の第1筒状芯材の内側に固定し、中心部にさらに筒状の第2筒状芯材を固定し、第1筒状芯材と第2筒状芯材の間に合成生体吸収性高分子溶液を流し込んで凍結乾燥すれば、反転を行わないで、内面にスponジを有する神経再生チューブを得ることができる。

【0025】合成生体吸収性高分子溶液に、細胞接着性因子及び／又は成長因子を所定の濃度で配合しておけば、該因子がスponジ内に含まれる神経再生チューブを得ることができる。

【0026】工程（B）で得られたスponジ及び強化材を有する筒状芯体を細胞接着性因子及び／又は成長因子の溶液（好ましくは水溶液）に浸漬して凍結乾燥する工程を行うことによっても、細胞接着性因子及び／又は成長因子でコーティングされたスponジ内面を有する神経再生チューブを得ることができる。また、成長因子を架橋ゼラチン微粒子に包含させてからスponジと複合化させてもよい。

【0027】細胞接着性因子の濃度としては、0.01～10%程度が例示される。

【0028】細胞接着性因子及び／又は成長因子の溶液

は、通常水溶液が用いられるが、含水アルコール等の水性溶液を用いてもよい。

【0029】チューブ内面にシュワン細胞を播種して培養すると、チューブ内面にシュワン細胞が1層で好ましくは内腔全周に存在する神経再生チューブを得ることができる。シュワン細胞を内腔全周に接着させるためには、チューブを回転させながら（転がしながら）ビベッティングして内腔全体にシュワン細胞を播種するのが好ましい。

10 【0030】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づいてより詳細に説明する。

製造例1

ポリ乳酸繊維(40d)を組紐機を用いて製紐し、筒状芯材とした。これをステンレス製ロッドにはめ、乳酸／ε-カプロラクトン共重合体（モル比50/50）のジオキサン溶液（5重量%）に浸漬後、-40℃にて凍結してから30℃で24時間凍結乾燥した。このようにして、内層に乳酸／ε-カプロラクトン共重合体スponジ、外層にポリ乳酸組紐からなる強化材を有する複合体（実験例4の(A)）を得た。

【0031】コラーゲン（Type I、豚腱由来アテロコラーゲン）の0.1%溶液を上記スponジ複合体に十分に浸透させ、-100℃にて凍結後30℃にて24時間凍結乾燥した。内面を含む全体にType Iコラーゲンがコーティングされたコラーゲンチューブ（実験例4の(C)）を得た。

【0032】得られた神経再生チューブは、図1（組紐強化材層表面の50倍拡大写真）、図2（スponジ内層の400倍拡大写真）、図3（チューブの横断面の50倍拡大写真）に示すように、内層がスponジであり、外層は強化材であって、スponジ層と強化材層は分離していた。

製造例2

ポリ乳酸繊維(40d)を組紐機を用いて製紐し、筒状芯材とした。これをステンレス製ロッドにはめ、乳酸／ε-カプロラクトン共重合体（モル比25/75）のジオキサン溶液（5重量%）に浸漬後、-40℃にて凍結してから30℃で24時間凍結乾燥した。このようにして、内層に乳酸／ε-カプロラクトン共重合体スponジ、外層にポリ乳酸組紐からなる強化材を有する複合体（実験例4の(B)）を得た。

製造例3

Type Iコラーゲンに代えてType IVコラーゲンを用いる他は製造例1と同様にして内面を含む全体にType IVコラーゲンがコーティングされたコラーゲンチューブ（実験例4の(D)）を得た。

製造例4

Type Iコラーゲンに代えてType IコラーゲンとType IVコラーゲンの混合物（1:1重量比）を用いる他は製造

例1と同様にして全体にType I + Type IVコラーゲンがコーティングされたコラーゲンチューブ（実験例4の（E））を得た。

#### 実験例1

Fischer 344ラット雄10匹の両坐骨神経を一時的に切離する。右側は、P(LA/CL)スponジ内層、芯材PLLA組紐外層で作製されたチューブ（内径2mm、長さ4mm）にType Iコラーゲンをコーティングしたもの用い、両端に2mmずつ神経を挿入し、これらの神経断端を密着させて神経接合を行った。神経接合は、8・0ナイロン糸により神経をチューブに縫合することにより行った。一方、左側には、一時的に切離した坐骨神経を8-0ナイロン糸にて縫合を行った。

【0033】術後8週にて両側坐骨神経を摘出し、移植部の中核及び末梢の軸索数及び軸索密度を測定した。

【0034】これらの結果によると、P(LA/CL)スponジをPLLA組紐からなる芯材で補強したチューブを用いると神経の再生は良好な結果を示し、切断された神経を縫合するよりも簡便な方法で同等もしくはそれを上回る結果が得られた。

#### 実験例2

Fischer 344ラット雄10匹の両坐骨神経を約12mm切離した。右側は、P(LA/CL)スponジ内層、PLLA組紐外層で作製されたチューブ（内径2mm、長さ16mm）にType Iコラーゲンをコーティングしたもの用い、両端に2mmずつ神経を挿入し、欠損間隔を12mmになるようにし、8・0ナイロン糸にてチューブの両末端と神経繊維を縫合することにより固定した。左側には、Type Iコラーゲンに代えてType IVコラーゲンを用いてコーティングした他は同様にして神経繊維を固定した。

【0035】術後8週にて両側坐骨神経を摘出し、移植部の中核及び末梢の軸索数及び軸索密度を測定した。

【0036】これらの結果によると、神経断端はType IコラーゲンとType IVコラーゲンは、いずれも同様に良好な結果を示した。

#### 実験例3

日本白色家兎10羽を用い、両側の総腓腹神経に約20mmの欠損を作成した。次に同側の腓腹神経を60mm採取し、長さ20mm×3本のcable graftを作製して、総腓腹神経欠損部に手術用顕微鏡下に極性を反転させ移植した。うち5羽10肢は縫合部はそのままとし、閉創しコントロールとした。残り5羽10肢に対しては中核及び末梢の神経接合部に長さ6mm、内腔2mmの生体吸収性チューブを縦割りしたもので全周を巻き込み再び管腔状となるように縫合した。それら2群について術後6ヶ月

の時点で電気生理学的・機能的及び形態学的検索を行った。

#### 実験例4

製造例1～4で得られた以下の（A）～（E）の複合体を用いた。

（A）：CL:PLLA(50:50)、コラーゲンコーティング

（-）

（B）：CL:PLLA(75:25)、コラーゲンコーティング

（-）

10 （C）：CL:PLLA(50:50)、Type Iコラーゲンコーティング（+）

（D）：CL:PLLA(50:50)、Type IVコラーゲンコーティング（+）

（E）：CL:PLLA(50:50)、Type I+Type IVコラーゲンコーティング（+）

上記複合体を軸方向に切り、平板状の複合体を得、これをディスク状に切断した。得られたディスク状の複合体をエタノール処理した後、ラットの後根神経節から採取し培養したシュワン細胞を前記複合体のスponジ状のCL/PLLA共重合体上又はその表面を覆ったコラーゲンコーティング層上に播種し、その接着性を走査電子顕微鏡及び組織学的に検討した。なお、シュワン細胞の同定にはS-100抗体による免疫染色を行った。複合体（C）を用いたS-100抗体による免疫染色結果を図4に示す。

【0037】その結果、（A）～（E）の全ての複合体において、CL/PLLA共重合体スponジ上に一層性にシュワン細胞の接着が認められた。

#### 【0038】

【発明の効果】本発明の方法によれば、シリコーンチューブを使用した場合と同等以上の神経再生が行われ得、しかも生体吸収性材料のみからなっているので術後に取り出す必要がない。

【0039】死体の神経移植が近年実施されているが、免疫抑制剤が必要であったり、ウイルス感染の危険があり、一般的な手法になり難いが、本発明にはそのような問題はない。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】組紐強化材層表面を示す図面代用写真（50倍拡大）である。

40 【図2】スponジ内層を示す図面代用写真（400倍拡大）である。

【図3】チューブの横断面を示す図面代用写真（50倍拡大）である。

【図4】実験例4のS-100抗体による免疫染色結果を示す図面代用写真である。

【図1】



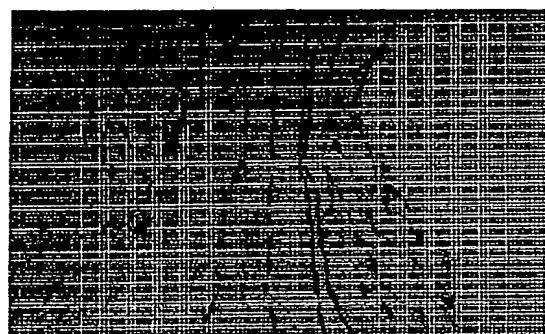
【図2】



【図3】



【図4】




---

フロントページの続き

(72) 発明者 高松 聖仁  
 大阪府大阪市天王寺区上汐6-4-5 七  
 ザンヌタ陽丘502号

Fターム(参考) 4C081 AB18 BA12 BA16 CA161  
 CA162 CD122 CD132 DA03  
 DA05 DA06 DB03 DC03  
 4C097 AA14 BB04 CC02 DD02 DD05  
 DD12 EE08 EE19 FF02 FF17  
 MM04